

CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Muscle Actin
Clon HHF35
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS700

Uso previsto

Para uso en diagnóstico in vitro.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Muscle Actin, Clone HHF35, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo resulta útil para la identificación de tumores de tejido blando con diferenciación muscular, es decir, leiomioma (LM), leiomiosarcoma (LMS) (1) y rabdomiosarcoma (RMS) (1, 2). La interpretación de los resultados de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

La actina es una proteína altamente conservada de la que hay al menos seis isoformas diferentes, que se pueden distinguir en función de sus secuencias de aminoácidos, así como de sus puntos isoeléctricos (1, 3). Es una de las principales proteínas estructurales y es imprescindible para la contracción de los músculos. No obstante, se ha observado que también regula la transducción de señales, la actividad de las enzimas y las proteínas transmembrana, y que participa en la transcripción, el transporte de mRNA y su traducción y en las transmisiones sinápticas (3).
La actina se expresa en muy diversas células, entre ellas las células musculares del esqueleto, las células del músculo liso, los pericitos y las células mioepiteliales (4).

Consulte las *General Instructions for Immunohistochemical Staining* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción y 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de azida de sodio.

Clon: HHF35 (1, 4). Isotipo: IgG1, kappa.

Inmunógeno

Fracción proteica del miocardio humano extraída de SDS de un caso de estenosis subaórtica hipertrófica idiopática.

Especificidad

En la inmunotransferencia de Western de actina purificada de los músculos del esqueleto de un conejo así como de extractos de aorta, útero, diafragma y corazón de mono, el anticuerpo marca la proteína de 42 kDa correspondiente a la actina muscular de los isotipos α y γ, pero no llega a reaccionar con la actina α de fuentes que no sean musculares (células endoteliales) (4).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deberán aplicarse los procedimientos adecuados de manejo.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución no utilizada debe desecharse con arreglo a las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ℃. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen la inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no pueda explicarse por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche de la existencia de un problema con un anticuerpo, contáctese con la Asistencia Técnica de Dako.

Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL)
Autoprograma: ACTIN (sin contratinción) o ACTINH (con contratinción)

El paso Auxiliar debe configurarse a "tampón de enjuague" en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con > 10 portaobjetos, el paso Auxiliary debe configurarse a "none". De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.
Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir colon y lengua, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de rendimiento" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.

Características de resultados

Tejidos normales: en el colon, las células del músculo liso que conforma la lámina propia muestran una reacción de tinción de moderada a fuerte. En la lengua, las glándulas salivares y las mucosas muestran una reacción de tinción de débil a moderada. En el tejido normal, el anticuerpo marca las fibras estriadas de los músculos del esqueleto, los músculos lisos de las arterias y las venas y los pericitos de las arterias más pequeñas, la lámina muscular del tracto gastrointestinal, el miometrio del útero, el estroma de próstata, las células de la cápsula en varios órganos parenquimatosos, incluidos el riñón, el hígado, los nódulos linfáticos y el bazo, y las capas mioepiteliales de los conductos y las glándulas mamarias, así como las glándulas exocrinas salivares, bronquiales y sudoríparas (1, 4, 7, 5–7). Otras células no musculares son no reactivas; entre ellas se encuentran el tejido conectivo, las células epiteliales, las células linfoides, los macrófagos, las células neurales y las células endoteliales vasculares (1, 4, 6, 7).

Tejidos anormales: en tejidos patológicos, ha quedado demostrado que este anticuerpo es un marcador fiable para los tumores de tejidos blandos con diferenciación muscular, p.ej., los leiomyomas (LM), leiomyosarcomas (LMS) y los rhabdomyosarcomas (RMS), tumores para los que exhibió un mayor grado de sensibilidad que los anticuerpos para la desmina (1). Así lo han confirmado Schmidt, et al. (1988) (2) quienes descubrieron que 29/30 RMS, incluidos subtipos pleomorfos, botrioideos, alveolares y embrionarios, sin importar el grado de diferenciación, daban un resultado positivo. En un estudio en el que se analizaron 285 tumores de tejidos blandos bien caracterizados, 17/17 RMS, 31/32 LMS, 23/23 LM y 3/5 pleomorphic liposarcomas dieron un resultado positivo (5). La mayor parte de los glomangiomas reaccionaron también con el anticuerpo (5, 8). En los tumores desmoides hubo células que dieron un resultado positivo en 9/15 casos (5). Otros investigadores, que descubrieron que 34/35 RMS, 11/22 LMS, 5/6 LM y 4/4 rhabdomyomas daban un resultado positivo, ofrecieron resultados similares (6). Los miofibroblastos de algunas lesiones, incluido el tejido reactivo, las heridas en proceso de curación y las placas ateroscleróticas también reaccionaron con el anticuerpo en la mayor parte de los casos (1, 4, 6, 9). El anticuerpo se utilizó asimismo para diferenciar los tumores de mama no invasivos (que sistemáticamente dieron resultados positivos cuando se trataba de actina) de los tumores de mama no invasivos (los cuales dieron resultados negativos cuando se trataba de actina) (7). Los sarcomas de células no musculares y las células neoplásicas de los carcinomas, melanomas y linfomas resultaron ser no reactivas (1, 5).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Referencias bibliográficas

1. Tsukada T, McNutt MA, Ross R, Gown A. HHF35, A muscle-actin-specific monoclonal antibody. II. Reactivity in normal, reactive, and neoplastic human tissues. Amer J Pathol 1987;127:389-402.
2. Schmidt R, Cone R, Haas J, Gown A. Diagnosis of rhabdomyosarcomas with HHF35, a monoclonal antibody directed against muscleactins. Amer J Pathol 1988;131:19-28.
3. Khatalina SY. Functional specificity of actin isoforms. Inter Rev Cytol 2001;202:35-98.
4. Tsukada T, Tippens D, Gordon D, Ross R, Gown A. HHF35, a muscle-actin specific monoclonal antibody. I. Immunocytochemical and biochemical characterization. Amer J Pathol 1987;126:51-60.
5. Miettinen M. Antibody specific to muscle actins in the diagnosis and classification of soft tissue tumors. Amer J Pathol 1988;130:205-15.
6. Rangdaeng S and Truong LD. Comparative immunohistochemical staining for desmin and muscle-specific actin. Amer J Clin Pathol1991;96:32-45.
7. Gottlieb C, Raju U, Greenwald KA. Myoepithelial cells in the differential diagnosis of complex benign and malignant breast lesions: An immunohistochemical study. Mod Pathol 1990;3:135-40.
8. Porter P, Bigler S, McNutt M, Gown A. The immunophenotype of hemangiopericytomas and glomus tumors, with special reference to muscle protein expression: An immunohistochemical study and review of the literature. Mod Pathol 1991;4:46-52.
9. Gown AM, Tsukada T, Ross R. Human atherosclerosis II. Immunocytochemical analysis of the cellular composition of humanatherosclerotic lesions. Amer J Pathol 1986;125:191-207.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C–8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17